

533,115.

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 5 月 13 日 (13.05.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/039403 A1

(51) 国際特許分類: A61K 45/00, A61P
25/00, 27/02, 43/00 // A61K 38/22, 38/31

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/013503

(22) 国際出願日: 2003 年 10 月 22 日 (22.10.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2002-318881

2002 年 10 月 31 日 (31.10.2002) JP
特願 2003-40250 2003 年 2 月 18 日 (18.02.2003) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 千寿製
薬株式会社 (SENJU PHARMACEUTICAL CO., LTD.)
[JP/JP]; 〒541-0046 大阪府 大阪市 中央区平野町 2 丁
目 5 番 8 号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高山 美子
(TAKAYAMA, Yoshiko) [JP/JP]; 〒655-0003 兵庫県 神
戸市 垂水区小東山本町 2 丁目 21 番 1-902 号
Hyogo (JP). 中村 義邦 (NAKAMURA, Yoshikuni)
[JP/JP]; 〒651-2116 兵庫県 神戸市 西区南別府 4 丁
目 366 番地の 1-106 号 Hyogo (JP). 井上 淳

(INOUE, Jun) [JP/JP]; 〒654-0101 兵庫県 神戸市 須磨
区白川字不計 1 番地の 6-603 号 Hyogo (JP). 東 光
佳 (AZUMA, Mitsuyoshi) [JP/JP]; 〒662-0031 兵庫県
西宮市 満池谷町 4 番 13-102 号 Hyogo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: REMEDY FOR CORNEAL FAILURE

(54) 発明の名称: 角膜障害治療剤

(57) Abstract: It is intended to provide a drug of a novel type for restoring the corneal sense after keratotomy or improving the dry eye symptom. Application of a somatostatin receptor agonist is useful in improving corneal dysesthesia following cataract operation, following LASIK operation, or associating corneal nerve degeneration such as neuroparalytic keratitis, corneal ulcer or diabetic keratopathy, and the dry eye symptom.

(57) 要約: 本発明は、角膜の術後の角膜知覚回復やドライアイの症状を改善する新しいタイプの医薬を提供する。ソマトスタチン受容体作動薬の適用は、白内障手術後、LASIK手術後、神経麻痺性角膜症、角膜潰瘍、糖尿病性角膜症などの角膜神経変性に伴う角膜知覚低下、ドライアイ症状の改善に有用である。

WO 2004/039403 A1

明細書
角膜障害治療剤

技術分野

- 5 本発明はソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜神経軸索伸展促進剤、および角膜神経軸索伸展による角膜知覚の回復、改善、並びにドライアイ及び角膜上皮欠損の治療剤に関する。

背景技術

- 10 レーザー屈折矯正角膜切除術（PRK）、レーザー角膜切削形成術（レーシック；LASIK）、角膜移植などの角膜手術後には、角膜神経が切断されるため、通常約3週間から1年間角膜知覚機能の低下症状が起きるといわれている。そしてこの角膜知覚機能の低下から角膜手術後の患者では瞬目回数が減少しドライアイの症状が認められることが問題となっている。また、
- 15 ドライアイ患者では、涙液機能の低下から角膜知覚の低下をもたらし、さらにこの角膜知覚の低下がさらなる涙液機能の低下と循環し、角膜表面の症状がさらに悪化することが問題となっている。しかし、現在角膜手術後の角膜知覚の回復は自然回復に委ねられ、またドライアイの治療においても角膜知覚を回復させるための積極的治療は施されていないのが現状である。
- 20 一方、ソマトスタチン(somatostatin)は、成長ホルモン放出抑制因子(somatotropin release inhibiting factor；SRIF)として、1973年に視床下部から単離されたペプチドで、現在までに、5個のサブタイプのソマトスタチン受容体が見出されており、それぞれSSTR1、SSTR2、SSTR3、SSTR4およびSSTR5と命名されている。ソマトスタチン
- 25 は成長ホルモン放出抑制因子として神経組織に広く分布し、眼組織においても虹彩、毛様体、網膜にソマトスタチン受容体が存在することが確認されている(Mori, M., et al., Neuroscience Letters, 1997年, 223巻, 3号, p. 185-188)。

また、ソマトスタチンは生体内において、内分泌系、外分泌系、神経系などにおいて多彩な機能を有し、例えば、神経伝達や神経細胞成長調節などに関与すること、また、PC12細胞において神経軸索伸展を促進させる作用があると報告されている (Ferriero, M. D. et., Developmental Brain Research, 1994年, 80巻, p. 13-18)。

ソマトスタチンが関与する眼疾患としては、緑内障、角膜実質の炎症、虹彩炎、網膜炎、白内障、結膜炎などが知られている (特表2002-515912、対応: WO98/58646、EP1019050)。

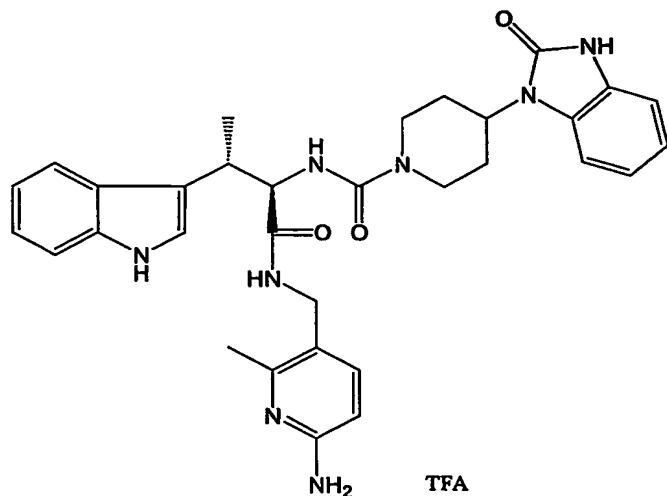
ソマトスタチンそのもの、またはその類縁体を医薬品として開発する試みもなされており、例えば、ソマトスタチン受容体作動薬として知られているオクトレオチド(octreotide)は消化管ホルモン産生腫瘍および末端肥大症・下垂体性巨人症の治療薬として市販されている。その他、例えば; ランレオタイド(lanreotide) (特開平2-289599、対応: EP389180)、AN-238 (特表2000-502055、対応: WO97/19954、US5843903)、PTR-3173 (特表2002-518339、対応: US6051554、US6355613)、SSTR2, SSTR3に親和性を有するアミン誘導体 (特開2000-226373、対応: US6329389)、ソマトスタチン受容体機能調節作用を有し、糖尿病、肥満糖尿病合併症などの予防または治療に有用な芳香族アミン誘導体 (特開2000-191615、対応: EP1123918)、ソマトスタチン受容体作動作用を有し、糖尿病などの予防または治療に有用な縮合環化合物 (特開平11-209356、対応: US6352982)、

例えば、式 I



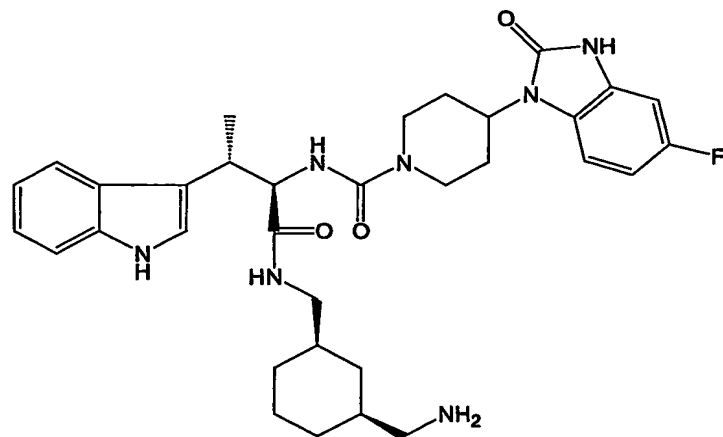
[X¹はAsp-Arg-Met-Pro-Cys, Arg-Met-Pro-Cys, Met-Pro-Cys, Pro-CysまたはCysを、X²はArgまたはLysを、X³はSerまたはThrを、X⁴がCys-LysまたはCysを示す。] で示されるソマトスタチン様活性を有するペプチド (特開平10-174587)、

例えば、式 II



などで表されるソマトスタチン作動薬（特表 2001-518895、対応：
WO98/45285、EP977751）、

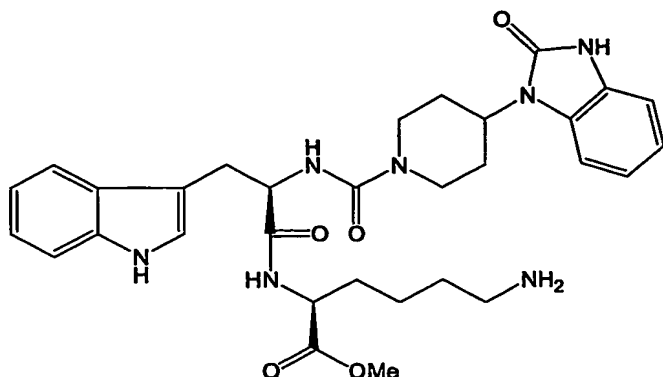
5 例えば、式 III



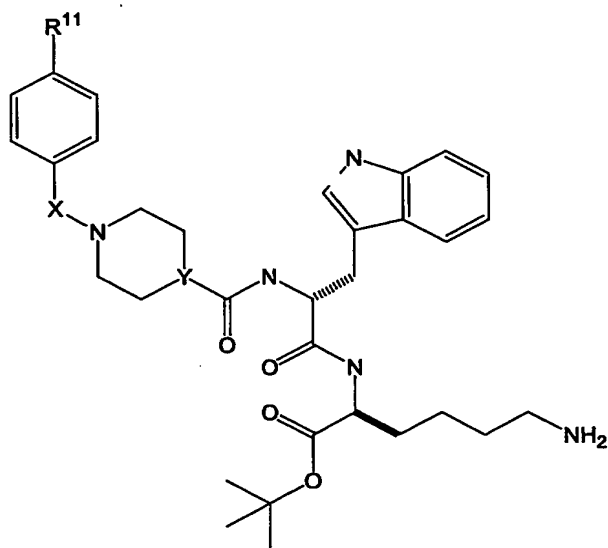
などで表されるソマトスタチン作動薬（特表 2001-519811、対応：
WO98/44921、US6063796）、

例えば、式 IV

4

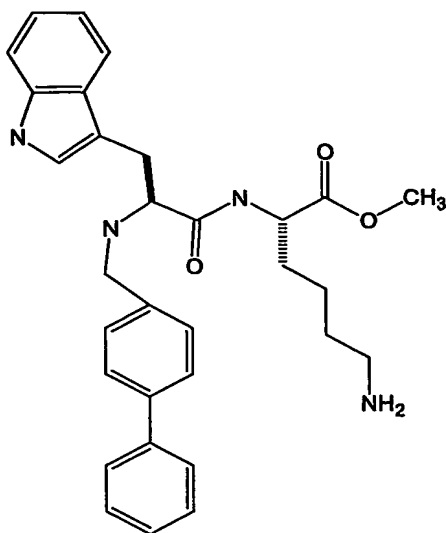


などで表されるソマトスタチン作動薬(特表2001-519812、対応：
WO98/44922、US6063796)、
式 V



5

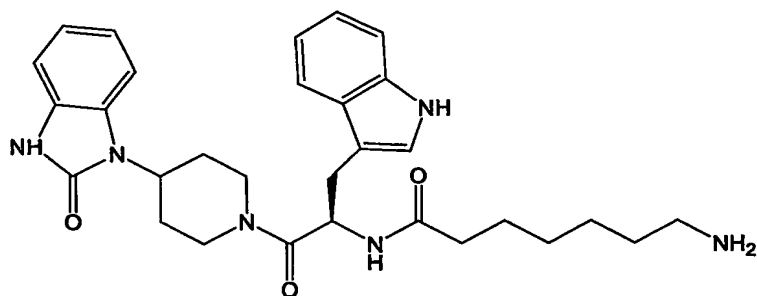
〔式中、 R^{11} は、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシ基、 (C_1-C_6) アルキル基、及び (C_1-C_6) アルコキシ基から選択した基であり；Xは、 $-CH_2-$ 基、 $-SO_2-$ 基、 $-CO-$ 基、又は直接結合であり；そしてYは、CH基又は窒素原子である〕などで表されるソマトスタチンアゴニスト(特開2001-114761、対応：EP1086947A1)、
例えば、式 VI



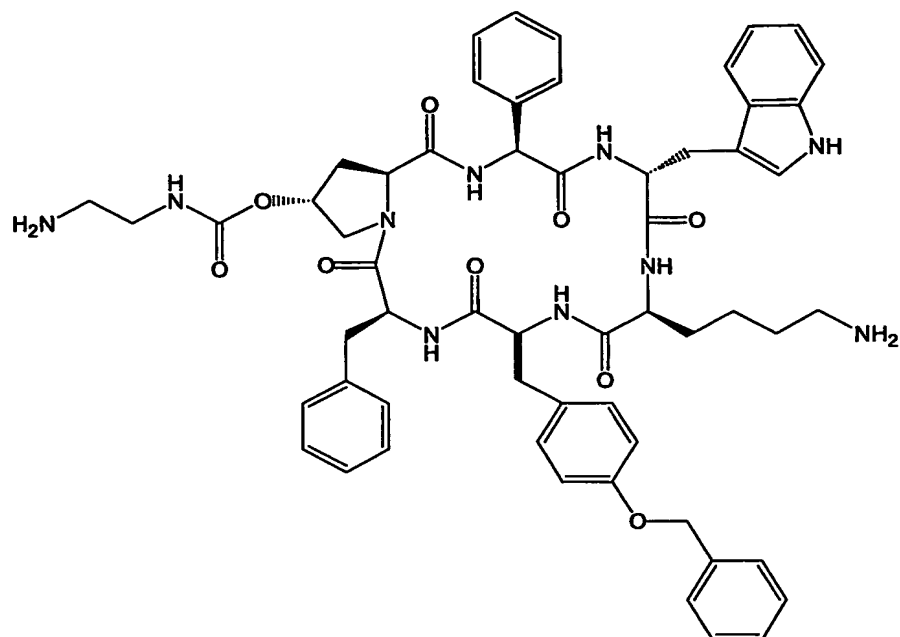
などで表されるソマトスタチンアゴニスト（特開２００２－３４９８、対応：
US 2001/047030）、

- 例えば、５－グアニジノ－２（（２－（トルエン－４－スルフォニル）－１，
5 2，3，4－テトラヒドロイソキノリン－３－カルボニル）－アミノ）－ペ
ンタン酸メチルエステルなどのSSTR2に作用するソマトスタチンアゴニス
ト（US 2002/91125A1）、

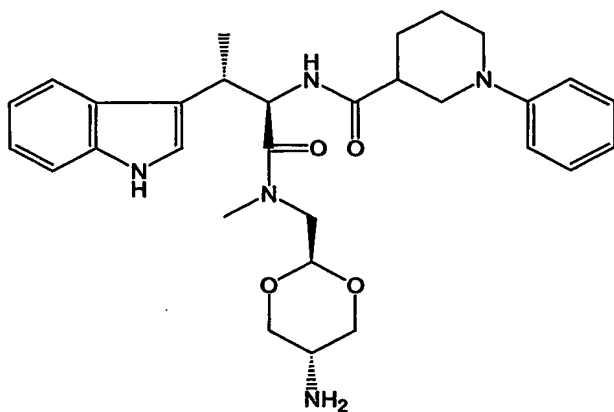
例えば、式 VII



- 10 などで表されるソマトスタチンアゴニスト（US 2002/91090A1）、
式 VIII

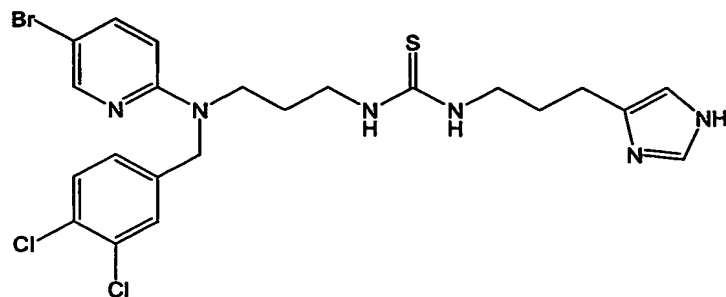


で示されるソマトスタチンアナログ（WO2002/10192）、
ソマトスタチンの1以上のサブタイプの受容体からアゴニスト効果を引き起こすイミダゾリル誘導体（WO99/64401）、ソマトスタチン受容体と親和性を持つヒダントイン誘導体（WO2001/85718）、ソマトスタチン受容体のリガンドとして有用な4-アミノピペリジン誘導体（WO2001/44191）、
例えば、式 IX



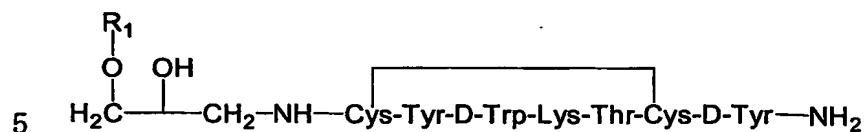
10 などで表されるソマトスタチンアゴニスト (US 6 3 8 7 9 3 2)、
例えば、P h e - シクロ (C y s - D - T r p - L y s - C y s) - T h r -
NH₂で示される SSTR1 アゴニスト (WO 2 0 0 0 / 7 5 1 8 6)、

選択的 SSTR4 結合作用を有し、緑内障治療作用が期待されるとして、式 X



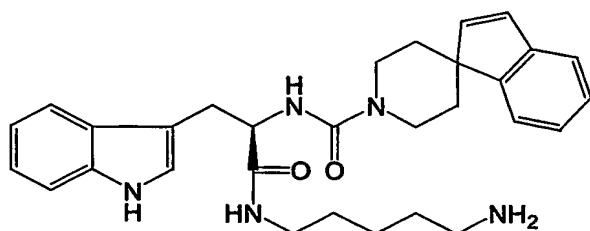
などで表される化合物 (US 6 1 2 7 3 4 3)、

式 XI



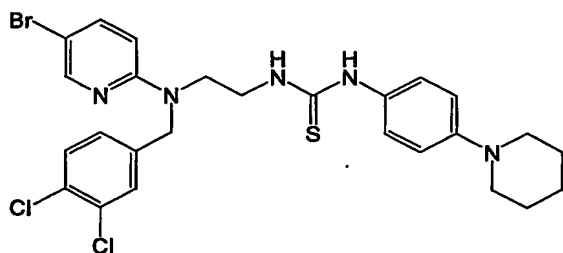
〔式中、R₁はC₁—C₄アルキル、アダマンチルなどを示す〕で示されるソマトスタチンアナログ (WO 2 0 0 0 / 1 0 5 8 9)、

例えば、式 XII



10 などで示されるソマトスタチンアゴニスト (WO 9 9 / 2 2 7 3 5、対応：US 6 1 1 7 8 8 0)、

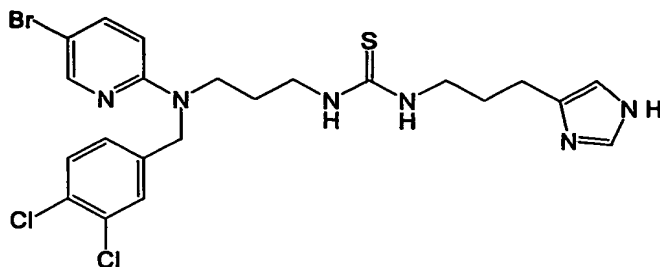
例えば、式 XIII



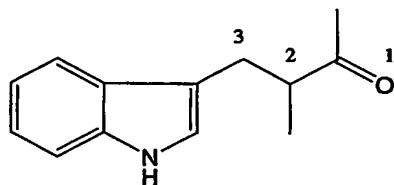
などで示されるソマトスタチンアゴニスト (特表 2 0 0 1 - 5 0 2 7 1 2、対

15 応：US 6 0 2 0 3 4 9、US 6 0 8 3 9 6 0)、

例えば、式 XIV



などで示されるソマトスタチンの作動因子（特表 2001-525793（対応：WO97/43278、EP912551）、例えば、シクロ〔Ty r -
 5 D-Tr p-L y s-V a l-P h e（4-（3-メトキシフェニル）イミダゾール）-G l y〕などで示されるサイクリックソマトスタチン類似体（特表 2002-518409（対応：WO99/65942、EP1086131）、不安、鬱などの処置に有用な SSTR1 選択的アゴニストであるエルゴリン誘導体（特表 2001-527580（対応：WO98/54183、US622
 10 1870）、ソマトスタチン受容体機能調節剤としてのビフェニル化合物（特開 2002-80439、対応：WO2002/000606）、ソマトスタチン受容体に結合して、Na チャンネルを遮断する β -カルボリン誘導体（特表 2002-517500、対応：WO99/64420、EP1086101）、バプレオチド（vapreotide, Sharon Gazal et al., Journal of Medicinal
 15 Chemistry, 2002 年, 45 巻, p. 1665-1671）、ソマトスタチン受容体結合阻害作用を有する化合物で、基：



の 2 位に窒素原子が置換していることに特徴がある特異な化学構造を有するア
 ミン誘導体（特開 2002-348287）、およびソマトスタチンレセプター
 20 ーに対して親和性および選択性を有するピリドチエノジアゼピン（特表 200

2-541260、対応：WO2000/61587）などが知られている。

その一方、角膜においては、ソマトスタチン受容体が存在することは未だ報告されていない。また、角膜の神経に関して、三叉神経節で分岐する第一枝 (ophthalmic branch) 由来の神経のほとんどが角膜に分布し、角膜の術後知覚回復、角膜上皮の修復などに深く関わっていることが報告されている (Ke-Ping Xu et al. Cornea, 1996年, 15巻, p. 235-239)。

しかし、三叉神経（角膜神経）にソマトスタチン受容体が存在することや、三叉神経（角膜神経）の神経軸索伸展をソマトスタチンが促進させるという報告は認められない。

10

発明の開示

本発明は、レーザー屈折矯正角膜切除術（PRK）、レーザー角膜切削形成術（レーシック；LASIK）、および、角膜移植などの角膜手術後やドライアイ患者などで角膜知覚機能の低下した患者の角膜知覚機能を回復させ、さらに、これら角膜知覚機能の低下に伴う角膜上皮の障害を治療する医薬を提供する。

本発明者らは、角膜の術後の角膜知覚回復やドライアイの症状を改善する新しいタイプの医薬を提供することを目的に検討を行ったところ、ソマトスタチンが三叉神経（以後、角膜神経ということもある。）の軸索伸展促進効果があること、また三叉神経にソマトスタチン受容体が存在することを初めて見出し、これらの知見に基づいてさらに研究をすすめ、ソマトスタチン受容体作動薬を角膜知覚回復などの医薬として利用する本発明を完成した。

すなわち、本発明は、

- (1) ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜神経軸索伸展促進剤、
- (2) ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜知覚回復剤、
- (3) ソマトスタチン受容体作動薬を含有するドライアイ治療剤、
- (4) ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜上皮欠損治療剤、
- (5) ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜神経軸索伸展促進用医薬組

成物、

- (6) ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜知覚回復用医薬組成物、
- (7) ソマトスタチン受容体作動薬を含有するドライアイ治療用医薬組成物、
- (8) ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜上皮欠損治療用医薬組成物、
- 5 (9) 角膜神経軸索伸展促進用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用、
- (10) 角膜知覚回復用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用、
- 10 (11) ドライアイ治療用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用、
- (12) 角膜上皮欠損治療用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用、
- (13) 角膜神経の軸索伸展促進が必要とされる疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによる角膜神経の軸索伸展促進方法、
- 15 (14) 角膜知覚の回復が必要とされる疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによる角膜知覚回復方法、
- (15) ドライアイに罹患した疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによるドライアイの治療方法、
- 20 (16) 角膜上皮が欠損した疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによる角膜上皮欠損の治療方法、

に関するものである。

ここで、ソマトスタチン受容体作動薬とは、ソマトスタチンそのものの他、ソマトスタチン受容体に作用し、ソマトスタチンと同様の作用を示すものをい

25 い、ソマトスタチンアゴニスト、ソマトスタチン類似体、ソマトスタチンアナログなどといわれているものを包含する。

ソマトスタチン受容体作動薬としては、ソマトスタチンそのものの他、ソマトスタチン受容体に作用しソマトスタチンと同様の作用を示すものであれば、

いずれの化合物であっても有利に使用できる。そのような化合物としては、例えば、ソマトスタチン受容体作動薬として知られているオクトレオチド (octreotide)、特開平 2-289599 (対応: EP 389180) に記載のランレオタイド (lanreotide)、バプレオチド (vapreotide) などのオクタペ
5 プチド、特表 2000-502055 (対応: WO 97/19954、US 843903) に記載の例えば AN-238 などのソマトスタチン類似環状ペプチド、特表 2002-518339 (対応: US 6051554、US 6355613) に記載の例えば PTR-3173 などの主鎖環化ソマトスタチン類似体、特開 226373 (対応: US 6329389) や特開 2002-34
10 8287 に開示のアミン誘導体、特開 2000-191615 (対応: EP 1123918) に記載の芳香族アミン誘導体、特開平 11-209356 (対応: US 6352982) に記載の縮合環化合物、特開平 10-174587 に記載のペプチド類、特表 2001-518895 (対応: WO 98/45285、EP 977751)、特表 2001-519811 (対応: WO 98/
15 44921、US 6063796) および特表 2001-519812 (対応: WO 98/44922、US 6063796) に記載のソマトスタチン作動薬、特開 2001-114761 (対応: EP 1086947A1)、特開 2002-3498 (対応: US 2001/047030)、US 2002/
91125A1、US 2002/91090A1、US 6387932、WO
20 99/22735 (対応: US 6117880)、特表 2001-502712 (対応: US 6020349、US 6083960) に記載のソマトスタチンアゴニスト、WO 2002/10192 および WO 2000/10589 に記載のソマトスタチンアナログ、WO 99/64401 に記載のイミダゾリル誘導体、WO 2001/85718 に記載のヒダントイン誘導体、WO 2001/
25 /44191 に記載の 4-アミノピペリジン誘導体、WO 2000/75186 に記載の SSTR1 アゴニスト、US 6127343 に記載の選択的 SSTR4 結合作用を有し、緑内障治療作用を示す化合物、特表 2001-525793 (対応: WO 97/43278、EP 912551) に記載のソマトスタチ

ンの作動因子、特表 2002-518409 (対応: WO99/65942、EP1086131) に記載のサイクリックソマトスタチン類似体、特表 2001-527580 (対応: WO98/54183、US6221870) に記載のエルゴリン誘導体、特開 2002-80439 (対応: WO2002/0050606) に記載のビフェニル化合物、特表 2002-517500 (対応: WO99/64420、EP1086101) に記載の β -カルボリル誘導体、および特表 2002-541260 (対応: WO2000/61587) に記載のピリドチエノジアゼピンなどが挙げられる。

本発明のソマトスタチン受容体作動薬を含有する医薬は、哺乳動物（例えば
10 ヒト、ラット、マウス、ウサギ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコなど）の角膜神経が障害、切断または角膜上皮が欠損した角膜において、低下した角膜知覚機能の回復に有用である。例えば、PRKやLASIK、角膜移植などの手術後の低下した角膜知覚回復のための治療薬として、あるいは角膜知覚の低下したドライアイ患者の治療薬として、さらに、角膜知覚機能の低下に伴う角膜上皮障害
15 の治療薬として有用である。また、ソマトスタチン受容体作動薬としては、ソマトスタチン受容体サブタイプである SSTR2 または / および SSTR4 に特異的に作用するアゴニスト（作動薬）がより好ましい。

本発明の医薬は全身的または局所的に投与される。全身的には経口投与の他、
静脈内注射、皮下注射、筋肉内注射など非経口的にも投与される。局所的には、
20 眼に投与される。

本発明の医薬の製剤形態としては、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、坐剤などの固形剤、およびシロップ剤、注射剤、点眼剤などの液剤などが挙げられる。顆粒および錠剤として製造する場合には、例えば賦形剤（乳糖、白糖、ブドウ糖、デンプン、結晶セルロースなど）、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム、
25 タルク、ステアリン酸、ステアリン酸カルシウムなど）、崩壊剤（デンプン、カルメロースナトリウム、炭酸カルシウムなど）、結合剤（デンプン糊液、ヒドロキシプロピルセルロース液、カルメロース液、アラビアゴム液、ゼラチン液、アルギン酸ナトリウム液など）などを用いることにより任意の剤形を製造

することができる。また、顆粒剤および錠剤には、適当なコーティング剤（ゼラチン、白糖、アラビアゴム、カルナバロウなど）、腸溶性コーティング剤（例えば酢酸フタル酸セルロース、メタアクリル酸コポリマー、ヒドロキシプロピルセルロースフタレート、カルボキシメチルエチルセルロースなど）などで剤皮を施してもよい。

- カプセル剤として製造する場合には、適当な賦形剤、例えば流動性と滑沢性を向上させるためのステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、軽質無水ケイ酸など、また加圧流動性のための結晶セルロースや乳糖などの他、上記崩壊剤などを適宜添加したものを均等に混和または粒状もしくは粒状としたものに適当なコーティング剤で剤皮を施したものを充填するか、適当なカプセル基剤（ゼラチンなど）にグリセリンまたはソルビトールなどを加えて塑性を増したカプセル基剤で被包成形することもできる。これらカプセル剤には必要に応じて、着色剤、保存剤〔二酸化イオウ、パラベン類（パラオキシ安息香酸メチル、エチル、プロピルエステル）〕などを加えることができる。
- カプセル剤は通常のカプセルの他、腸溶性コーティングカプセル、胃内抵抗性カプセル、放出制御カプセルとすることもできる。腸溶性カプセルとする場合、腸溶性コーティング剤でコーティングした化合物または化合物に上記の適当な賦形剤を添加したものを通常のカプセルに充填または、カプセル自身を腸溶性コーティング剤でコーティング、もしくは腸溶性高分子を基剤として成形することができる。

坐剤として製造する場合には坐剤基剤（例えばカカオ脂、マクロゴールなど）を適宜選択して使用することができる。

- シロップ剤として製造する場合、例えば安定剤（エデト酸ナトリウムなど）、懸濁化剤（アラビアゴム、カルメロースなど）、矯味剤（単シロップ、ブドウ糖など）、芳香剤などを適宜選択して使用することができる。

本発明の医薬を注射剤または点眼剤として製造する場合、医薬上許容される添加物、例えば等張化剤（塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、マンニトール、ソルビトール、ホウ酸、ホウ砂、ブドウ糖、プロピレングリコール

など)、緩衝剤(リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、炭酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、グルタミン酸緩衝液、イプシロンアミノカプロン酸緩衝液など)、保存剤(パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、ホウ酸、ホウ砂など)、増粘剤(ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコールなど)、安定化剤(亜硫酸水素ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、アスコルビン酸、ジブチルヒドロキシトルエンなど)、pH調整剤(塩酸、水酸化ナトリウム、リン酸、酢酸など)などを適宜添加した溶液に溶解または分散することによって製造することができる。

上記シロップ剤、注射剤および点眼剤における添加剤の添加量は、添加する添加剤の種類、用途などによって異なるが、添加剤の目的を達成し得る濃度を添加すればよく、等張化剤は、通常、浸透圧が約229～約343mOsmとなるよう、約0.5～約5.0w/v%を添加する。また、緩衝剤は約0.01～約2.0w/v%程度、増粘剤は約0.01～約1.0w/v%程度、安定化剤は約0.001～約1.0w/v%程度になるように添加する。pH調整剤は、適宜添加し、通常pH約3～約9、好ましくは約4～約8になるように添加する。

特に点眼剤として使用する場合、ソマトスタチン受容体作動薬の濃度は、通常下限は約0.0005w/v%、約0.001w/v%、約0.005w/v%であり、上限は約1.0w/v%、約0.5w/v%、約0.1w/v%、約0.05w/v%、約0.01w/v%に調製される。

本発明におけるソマトスタチン受容体作動薬の投与量は対象となる疾患、症状、投与対象、投与方法などにより異なるが、例えばPRK手術後の角膜知覚回復剤として成人の眼に局所的に使用する場合には、例えばソマトスタチン約0.01w/v%含有する点眼液を、1回約20～約50 μ L、1日数回点眼するのがよい。

- 本明細書および図面において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

- DNA : デオキシリボ核酸
cDNA : 相補的デオキシリボ核酸
DNase : デオキシリボヌクレアーゼ
SSTR : ソマトスタチン受容体
- 10 GAPDH : グリセルアルデヒド-3-ホスフェート-デヒドロゲナーゼ
NGF : 神経成長因子
A : アデニン
T : チミン
G : グアニン
- 15 C : シトシン
RNA : リボ核酸
mRNA : メッセンジャーRNA
Gly : グリシン
Ala : アラニン
- 20 Val : バリン
Ser : セリン
Thr : スレオニン
Cys : システイン
Met : メチオニン
- 25 Asp : アスパラギン酸
Lys : リジン
Arg : アルギニン
Phe : フェニルアラニン

T y r : チロシン

T r p : トリプトファン

P r o : プロリン

A s n : アスパラギン

5 M e : メチル基

図面の簡単な説明

図 1 はウサギ三叉神経と網膜でのソマトスタチン受容体サブタイプ(S S T R 2 及び S S T R 4)の発現を示す図である。

- 10 図 2 は培養ウサギ三叉神経細胞とその細胞からの軸索伸展を示す位相差顕微鏡像である。Aは無添加群、Bは $1\ \mu\text{M}$ ソマトスタチン添加群、Cは $10\ \mu\text{M}$ ソマトスタチン添加群、DはNGF添加群、Eはソマトスタチン+NGF添加群の各細胞を示す。

図 3 はウサギの角膜神経を切断した後の角膜知覚の推移を示すグラフである。

- 15 *は基剤投与群に対する有意差を示す($n = 6 \sim 12$ 、平均値 \pm 標準誤差、 $p < 0.05$)。

図 4 は培養ウサギ三叉神経細胞とその細胞からの軸索伸展を示す蛍光顕微鏡像である。Aはコントロール群、Bは $10\ \mu\text{M}$ オクトレオチド添加群の各細胞を示す。

- 20 図 5 は図 4 と同じ試験において、全細胞数に対する神経突起形成細胞の比率(%)を示すグラフである。*はコントロールに対する有意差($n = 3$ 、平均値 \pm 標準誤差、 $p < 0.05$)を示す。

図 6 は培養ウサギ三叉神経細胞とその細胞からの軸索伸展を示す蛍光顕微鏡像である。Aは無添加群、Bは $1\ \mu\text{M}$ 化合物 1 添加群、Cは $0.1\ \mu\text{M}$ 化合物 2 添加群の各細胞を示す。

25

図 7 は図 6 と同じ試験において、培養細胞のニューロフィランメント量を表す吸光度を示すグラフである($n = 3$ 、平均値 \pm 標準誤差)。

発明の実施のするための最良の形態

本発明を以下の試験例及び実施例に従いさらに詳細に説明するが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。

試験例 1. ウサギ三叉神経におけるソマトスタチン受容体の発現

5 1) 使用動物

福崎養兔組合より購入した日本白色種ウサギ（体重 2.0 kg）を使用した。

2) 試験方法

日本白色種ウサギにセラクター(xylazine)：ケタラル(塩酸ケタミン)＝0.5：1の混合液を筋肉内注射（0.9 mL/kg）し、全身麻酔を実施した。生理食塩水で心臓灌流後、網膜と三叉神経節をそれぞれ採取した。TRIzol Reagent（GIBCO BRL社製）を用いたAGPC法により、各組織からRNAを抽出し、DNase処理によりゲノムDNAを除去した後、SuperScript II（GIBCO BRL社製）を用いて逆転写反応を行なった。cDNAを、Platinum Taq DNA polymerase（GIBCO BRL社）を用いて表1に記す反応条件で増幅させた。なお、プライマーは表1記載のウサギのソマトスタチン受容体SSTR2遺伝子特異的プライマー（後記配列表：配列番号1）とSSTR4遺伝子特異的プライマー（後記配列表：配列番号2）を使用した。網膜およびGAPDHは発現の陽性コントロールとして用いた。

（表1）

動物	遺伝子	プライマー（5'－3'）	PCR反応条件
ウサギ	SSTR2	TGG CCG TCT TCA TTT TCT GCT CGC CGC TCA CTT TGA CCA AG (配列番号：1)	1.5 mM MgCl ₂ , pH 8.4 95℃(30秒), 58℃(1分), 72℃(1分) 35サイクル
	SSTR4	GTG GGC AAG ATG CGC GCT GTG AAT GGG GTT GGC GCA GCT GTT (配列番号：2)	1.5 mM MgCl ₂ , pH 10 95℃(30秒), 58℃(1分), 72℃(1分) 35サイクル

3) 試験結果

結果を図1に示した。ウサギ網膜(R)と三叉神経(T)におけるソマトスタチ

ン受容体、SSTR2およびSSTR4サブタイプをRT-PCR法により解析した結果、両組織においてSSTR2およびSSTR4とも発現が認められた。

試験例2. 培養ウサギ三叉神経細胞における神経軸索伸展促進作用 (In vitro
5 実験)

1) 使用動物

福岡養兔組合より購入した日本白色種ウサギ（生後2～3日目）を使用した。

2) 被験物質

被験物質として、ソマトスタチン(CALBIOCHEM社製, Lot B33795)およびNGF (NGF-7S, Sigma社製)を使用した。被験物質はリン酸緩衝液(PBS)
10 に100 μ M ソマトスタチン、20 μ g/mL NGF-7Sになるよう溶解した。調製した試薬は-80℃に保存し、使用前に溶解して使用した。

3) 試験方法

三叉神経細胞の単離はChanらの報告 (Kuan Y. Chan and Richard H. Haschke.
15 Exp. Eye Res. 41: 687-699, 1985) を参考にして行った。すなわち、エーテル麻酔下、ウサギを生理食塩水で心臓灌流後、三叉神経節を切り出し、神経分散液(住友ベークライト)を用いて、三叉神経節を分散させ、ポリリジン/ラミニンでコートした24ウェルプレート(住友ベークライト)に細胞を播種した。細胞数は1ウェルあたり約3000細胞とし、培養条件は5% CO₂、95%
20 空気環境下、37℃とした。細胞は5%牛血清 (Fetal calf serum; FCS) 添加 ダブルベッコの修正イーグル培地/F-12 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12: DMEM/F-12) 培養液中に播種して24時間培養後、培養液をFCS無添加のDMEM/F-12培養液に交換した。

25 その後、以下の5群:

I 無添加群

II 最終濃度1 μ Mとなるようソマトスタチンを添加した群

III 最終濃度10 μ Mとなるようソマトスタチンを添加した群

IV 最終濃度 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ となるようNGF添加した群

V ソマトスタチンおよびNGFをそれぞれ最終濃度 $1\mu\text{M}$ および $1\mu\text{g}/\text{mL}$ となるよう同時に添加した群

に分け、さらに48時間培養した。

- 5 ソマトスタチンおよびNGFによる三叉神経細胞の突起形成と軸索伸展に対する効果は位相差顕微鏡を用いた観察によって形態的に評価した。

4) 試験結果

図2は培養ウサギ三叉神経細胞の位相差顕微鏡像を示す。(A)は第I群の細胞を、(B)は第II群の細胞を、(C)は第III群の細胞を、(D)は第IV群
10 の細胞を、(E)は第V群の細胞をそれぞれ示している。

無添加群の細胞ではわずかな神経突起の形成が認められた(A)。 $1\mu\text{M}$ ソマトスタチン添加群の細胞(B)は(A)に比較して明らかに軸索伸展が促進され、 $10\mu\text{M}$ ソマトスタチン添加群の細胞(C)でも長い軸索伸展を示す細胞が多く観察された。NGF添加群の細胞(D)およびNGFとソマトスタチンを同時
15 に添加した群の細胞(E)においても、無添加群(A)に比較して明らかに神経細胞の神経軸索伸展促進作用が認められた。

試験例3. ウサギ角膜神経切断後の角膜知覚機能変化(In vivo 試験)

1) 使用動物

福崎養兔組合より購入した体重 $1.5\text{kg}\sim 2.0\text{kg}$ の雄性日本白色種ウ
20 サギを使用した。

2) 被験物質

被験物質としてソマトスタチン(CALBIOCHEM社製, Lot B33795)とNGF(NGF-7S, Sigma社製)を使用した。被験物質は、以下に示す基剤に溶解し、試験に用いた。

25 基剤処方:

塩化ナトリウム	0.9 g
リン酸2水素ナトリウム・2水和物	0.1 g
水酸化ナトリウム	適量 (pH 7.0)

注射用蒸留水

適量

全量 100 mL

3) 試験方法

ウサギにセラクター(xylazine)：ケタラル(塩酸ケタミン)=0.5：1
5 混合液を筋肉内注射(0.9 mL/kg)し、全身麻酔を実施した。角膜を直
径6 mmのトレパンで標識し、その上位180度の角膜を円形切開しながら8.
0 ナイロン縫合糸で縫合した。縫合の直後から、基剤(基剤投与群、n=10)、
ソマトスタチン溶液(100 µM、ソマトスタチン投与群、n=12)あるい
はNGF溶液(20 µg/mL、NGF投与群、n=6)を50 µLずつ、4
10 回/1日、4週間連続点眼投与した。手術後一週間は1日4回の被験物質点眼
の際に、同時にタリビット点眼液(Tarivid ophthalmic solution, Santen)を
点眼投与した。動物は室温23±3℃、湿度55±10%、12時間照明(8:
00点灯、20:00消灯)に設定された飼育室内で1ケージあたり1匹収容
し、飼育した。角膜知覚はCochet-Bonnet 角膜知覚計(LUNEAU社製)を用いて、
15 手術3日目と1、2、3、4、6週目に測定した。角膜知覚(%)は、各個体の
手術前の知覚を100%とし算出した。

4) 試験結果

図3は角膜神経を切断後の角膜知覚の推移を経時的に示している。角膜知覚
は角膜切開手術3日後から1週後にかけて、すべての群で急激に低下したが、
20 2週目以降、緩やかな角膜知覚の回復が認められた。3週、4週間後にソマト
スタチン投与群において、基剤投与群と比較して有意な角膜知覚回復効果が認
められた($p < 0.05$ 、Dunnett検定)。

試験例4. 培養ウサギ三叉神経細胞の軸索伸展に対するオクトレオチドの効果
(In vitro 試験)

25 1) 使用動物

福岡養兔組合より購入した日本白色種ウサギ(生後2～3日目)を使用した。

2) 被験物質

オクトレオチド(Octreotide; SMS 201-995, American Peptide Company, Inc.)

を使用した。

3) 試験方法

細胞培養：三叉神経細胞の単離はChanらの報告 (Kuan Y. Chan and Richard H. Haschke. *Exp. Eye Res.* 41: 687-699, 1985) を参考にして行った。すなわち、エーテル麻酔下、生理食塩水で心臓灌流後、三叉神経節を切り出し、神経分散液 (住友ベークライト) を用いて、三叉神経節を分散させた後、細胞数を計測して、ポリリシンでコートした8ウェルカルチャースライド (BECTON DICKINSON) に細胞を播種した。細胞数は1ウェルあたり約 3×10^3 細胞とし、培養条件は5% CO_2 、95%空気下、37℃とした。細胞培養にはニューロベーサル培養液 (GIBCO) にB27サプリメント (GIBCO; 0.02 mL/mL 培養液) を添加した培養液を用い、細胞播種直後にオクトレオチド ($10 \mu\text{M}$ 最終濃度) を培養液中に添加して24時間培養した。

免疫染色：培養24時間後に、細胞を4%パラホルムアルデヒドで室温で2時間固定し、神経細胞体および神経突起を構成するニューロフィラメントを特異的に認識する抗ニューロフィラメント200抗体 (NF, Anti-Neurofilament 200, Sigma) を用いて神経細胞、軸索および突起を蛍光染色した。染色細胞は蛍光顕微鏡からコンピュータに画像として取り込み、画像解析ソフト (MacSCOP, MITANI CO.) を用いてオクトレオチドによる突起形成と軸索伸展に対する効果を評価した。すなわち、細胞の軸索伸展長および細胞体直径を画像解析ソフトを用いて測定し、細胞体の直径の2倍以上長さの軸索を持つ細胞を神経突起形成細胞として全細胞数に対する比率 (%) を計算した。

4) 試験結果

図4は培養ウサギ三叉神経細胞におけるオクトレオチドの神経突起、軸索伸展効果を示している。(A)はオクトレオチド無添加培養液で24時間培養したコントロールのウサギ三叉神経細胞を、(B)はオクトレオチドを最終濃度 $10 \mu\text{M}$ 添加した培養液で24時間培養した細胞を示す。コントロールの細胞群と比較し、オクトレオチド添加群では神経突起形成細胞が増加することが確認された。

図5は神経突起形成細胞の全細胞数に対する比率(%)を示している。神経突起形成細胞の比率はコントロール群では全細胞の約21%、オクトレオチド添加群では全細胞の約43%であり、オクトレオチド添加による神経突起形成細胞の有意な増加が認められた($n=3$ 、平均値±標準誤差、 t 検定、 $p<0.05$)。

5 05%)。

以上のことから、ソマトスタチンのアナログであるオクトレオチドは三叉神経細胞の軸索伸展を促進することが分った。

試験例5. 培養ウサギ三叉神経細胞の軸索伸展に及ぼすソマトスタチン受容体アゴニストの効果 (In Vitro実験)

10 1) 使用動物

北山ラベスより購入した日本白色種ウサギ(生後2~3日)を使用した。

2) 被験物質

被験物質であるソマトスタチン受容体アゴニストとして、SSTR2特異的アゴニストである、6-アミノ-2-(3-(1H-インドール-3-イル)-2-(4-(2-オキソ-2,3-ジヒドロベンゾイミダゾール-1-イル)ピペリジン-1-カルボニル)アミノ)プロピオニルアミノ)ヘキサン酸

15 t-ブチルエステル(以下、化合物1と称する。)、および、SSTR4特異的アゴニストである、1-(3-(N-(5-プロモピリジン-2-イル)-N-(3,4-ジクロロベンジル)アミノ)プロピル)-3-(3-(1H-イミダゾール-4-イル)プロピル)チオウレア(以下、化合物2と称する。)を

20 用した。化合物1は特表2001-519812(WO98/44922)、実施例4の化合物で、実施例2の方法に従って合成した。化合物2は特表2001-525793(WO97/43278)実施例15の記載に従い合成した。

3) 試験方法

25 細胞培養: ウサギ三叉神経細胞の単離はChanらの報告(Kuan Y. Chan and Richard H. Haschke. *Exp. Eye Res.* 41: 687-699, 1985)を参考にして行った。すなわち、エーテル麻酔下、生理食塩水で心臓灌流を施した後、三叉神経節を取り出し、神経分散液(住友ベークライト)を用いて三叉神経節を分散させ、

三叉神経細胞を調製した。細胞培養にはNeurobasal medium (GIBCO) にB27 Supplement (GIBCO; 最終濃度. 2 % v/v) およびL-Glutamin (GIBCO; 最終濃度. 1 mM) を添加した培養液を用い、培養条件は、5 % CO₂, 95 % air, 100 % humidity, 37 °C, 48時間とした。細胞はポリリジンでコートした8ウェルカルチャースライド (BECTON DICKINSON) に約 3×10^3 細胞/ウェル、あるいはポリリジンでコートした96ウェルプレートに 3×10^3 細胞/ウェルとなるよう播種し、被験物質群の培養液中には化合物 1 (最終濃度 1 μ M) または化合物 2 (最終濃度0.1 μ M) を添加した。

細胞染色：48時間培養終了後、96ウェルプレートに播種した細胞を4%パラホルムアルデヒドにて固定し、神経細胞体および神経突起を構成するニューロフィラメントを特異的に認識する抗ニューロフィラメント200抗体(Sigma) およびHRP結合ヤギ抗マウスIgG抗体(和光純薬)を用いて細胞のニューロフィラメントを標識した。標識した細胞上に50 μ Lの0.02% H₂O₂ (Nacalai Tesque) および0.2% o-phenylenediamine (Sigma) を含むクエン酸緩衝液を添加して30分間発色させた後、50 μ Lの4.5 M H₂SO₄ (Nacalai Tesque) を添加して反応を停止した。発色終了後、この492 nmの吸光度を測定し、この測定値を染色されたニューロフィラメント量として、神経突起形成の指標とした(Taniwaki T., et al. Dev. Brain Res. (1995) 88, 109-166)。8ウェルカルチャースライドに播種した細胞は、4%パラホルムアルデヒドを用いて固定し、抗ニューロフィラメント200抗体 (Sigma) を用いて固定した標本を染色し、Alexa Fluor 568結合二次抗体 (Molecular probes) を用いて蛍光標識した。蛍光標識された細胞を蛍光顕微鏡下で観察し、細胞像をコンピュータに画像として取り込んだ。

4) 実験結果

図6は培養ウサギ三叉神経細胞の蛍光顕微鏡像を示している。(A)はソマトスタチン受容体アゴニスト無添加培養液で培養したコントロール群の細胞を、(B)は化合物1を最終濃度1 μ M添加した群の細胞を、(C)は化合物2を最終濃度0.1 μ M添加した群の細胞を示している。コントロール群の細胞に比較し、化合物1または化合物2を添加した群の細胞では神経突起形成細胞が増加する

ことが確認された。図 7 は各添加群の細胞のニューロフィラメント量を表す吸光度を示すグラフである。コントロール群の吸光度は 0.798、化合物 1 添加群および化合物 2 添加群ではそれぞれ 0.876 および 0.850 であった。すなわち、ソマトスタチン受容体アゴニスト添加によってニューロフィラメント量が增加しており、神経突起形成細胞の増加を反映していると考えられた。

以上のことから、ソマトスタチン受容体アゴニストである化合物 1 と化合物 2 は三叉神経細胞の軸索伸展を促進する作用のあることがわかった。

以下に製剤実施例を示す。

実施例 1 錠剤

10	ソマトスタチン	50	mg
	乳糖	80	mg
	デンプン	17	mg
	ステアリン酸マグネシウム	3	mg
	結晶セルロース	10	mg

- 15 以上の成分を 1 錠分の材料として、常法により錠剤を成形する。錠剤は必要に応じて通常用いられる腸溶性コーティング剤（例えばフタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）、糖衣およびフィルム（例えばエチルセルロース）を適用してもよい。

実施例 2 カプセル剤

20	ソマトスタチン	75	mg
	マンニトール	75	mg
	デンプン	17	mg
	ステアリン酸カルシウム	3	mg

- 25 以上の成分を 1 カプセル剤の材料として均一に混合し、常法により顆粒状とし、硬カプセルに充填する。この充填する前に必要に応じて顆粒は通常用いられる腸溶性コーティング剤（例えばフタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース）、糖衣またはフィルム（例えばエチルセルロース）を適用してもよい。

実施例 3 注射剤

化合物 1	7 5 0	m g
カルボキシメチルセルロースナトリウム	5 0 0	m g
注射用水	適量	
	全量	1 0 0 m L

- 5 以上の成分を常法により無菌的に混和して注射剤を調製する。

実施例 4 点眼剤

	化合物 2	5 0	m g
	ホウ酸	7 0 0	m g
	ホウ砂	適量 (p H 7. 0)	
10	塩化ナトリウム	5 0 0	m g
	ヒドロキシメチルセルロース	0. 5	g
	エデト酸ナトリウム	0. 0 5	m g
	塩化ベンザルコニウム	0. 0 0 5	m g
	滅菌精製水	適量	
15		全量	1 0 0 m L

- 滅菌精製水 8 0 m L を約 8 0 °C まで加温し、ヒドロキシメチルセルロースを加えて攪拌し、液温を室温まで戻す。この液に化合物 2、塩化ナトリウム、ホウ酸、エデト酸ナトリウムおよび塩化ベンザルコニウムを加えて溶解する。ホウ砂を適量加えて p H を 7 に調整する。滅菌精製水を加えて 1 0 0 m L ま
- 20 でメスアップする。

実施例 5 点眼剤

	酢酸オクトレオチド	1 1 2	m g
	D-マンニトール	4. 5	g
	リン酸二水素ナトリウム	0. 1	g
25	水酸化ナトリウム	適量 (p H 7. 0)	
	滅菌精製水	適量	
		全量	1 0 0 m L

滅菌精製水 8 0 m L に酢酸オクトレオチド、D-マンニトール、リン酸二

水素ナトリウムを加えて溶解する。水酸化ナトリウムを適量加えてpHを5.0に調整する。滅菌精製水を加えて100mLまでメスアップする。調製した点眼剤をメンブランフィルターで滅菌した後、ディスポーザブル（ユニットドース）容器に充填、密封する。

5

産業上の利用可能性

- 本発明のソマトスタチン受容体作動薬を含有する医薬は、三叉神経細胞軸索伸展促進作用および角膜知覚機能回復作用を有することから、角膜神経の損傷などに伴う角膜知覚機能低下の改善および角膜知覚機能低下に伴うドライアイ
- 10 症状の改善に有用である。具体的には、ソマトスタチン受容体作動薬を適用することにより、白内障手術後やLASIK手術後の角膜知覚の低下、神経麻痺性角膜症、角膜潰瘍、糖尿病性角膜症などの角膜神経変性に伴う角膜知覚低下、ドライアイ症状の改善効果が期待できる。
- 15 以上、本発明の具体的な態様のいくつかを詳細に説明したが、当業者であれば示された特定の態様には、本発明の新規な教示と利点から実質的に逸脱しない範囲でいろいろな修正と変更をなすことは可能であるので、そのような修正および変更も、すべて後記の特許請求の範囲で請求される本発明の精神と範囲内に含まれるものである。
- 20 本出願は、日本で出願された特願2002-318881および特願2003-040250を基礎としており、それらの内容は本出願にすべて包含されるものである。

請求の範囲

1. ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜神経軸索伸展促進剤。
2. ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜知覚回復剤。
3. ソマトスタチン受容体作動薬を含有するドライアイ治療剤。
- 5 4. ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜上皮欠損治療剤。
5. ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜神経軸索伸展促進用医薬組成物。
6. ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜知覚回復用医薬組成物。
7. ソマトスタチン受容体作動薬を含有するドライアイ治療用医薬組成物。
- 10 8. ソマトスタチン受容体作動薬を含有する角膜上皮欠損治療用医薬組成物。
9. 角膜神経軸索伸展促進用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用。
10. 角膜知覚回復用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用。
- 15 11. ドライアイ治療用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用。
12. 角膜上皮欠損治療用医薬組成物を製造するためのソマトスタチン受容体作動薬の使用。
13. 角膜神経の軸索伸展促進が必要とされる疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによる角膜神経の軸索伸展促進方法。
- 20 14. 角膜知覚の回復が必要とされる疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによる角膜知覚回復方法。
15. ドライアイに罹患した疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによるドライアイの治療方法。
- 25 16. 角膜上皮が欠損した疾患対象にソマトスタチン受容体作動薬の有効量を投与することによる角膜上皮欠損の治療方法。

図 1

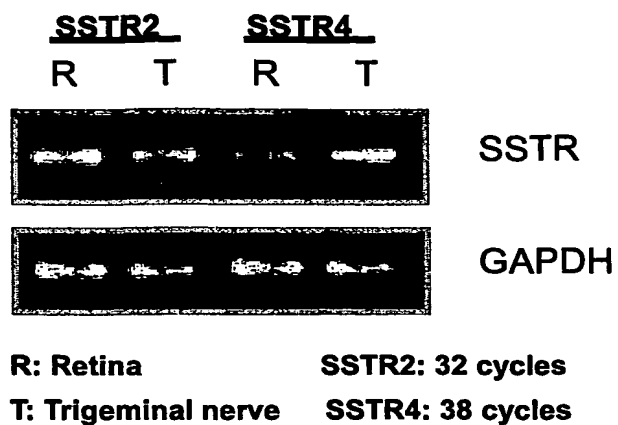


図 2

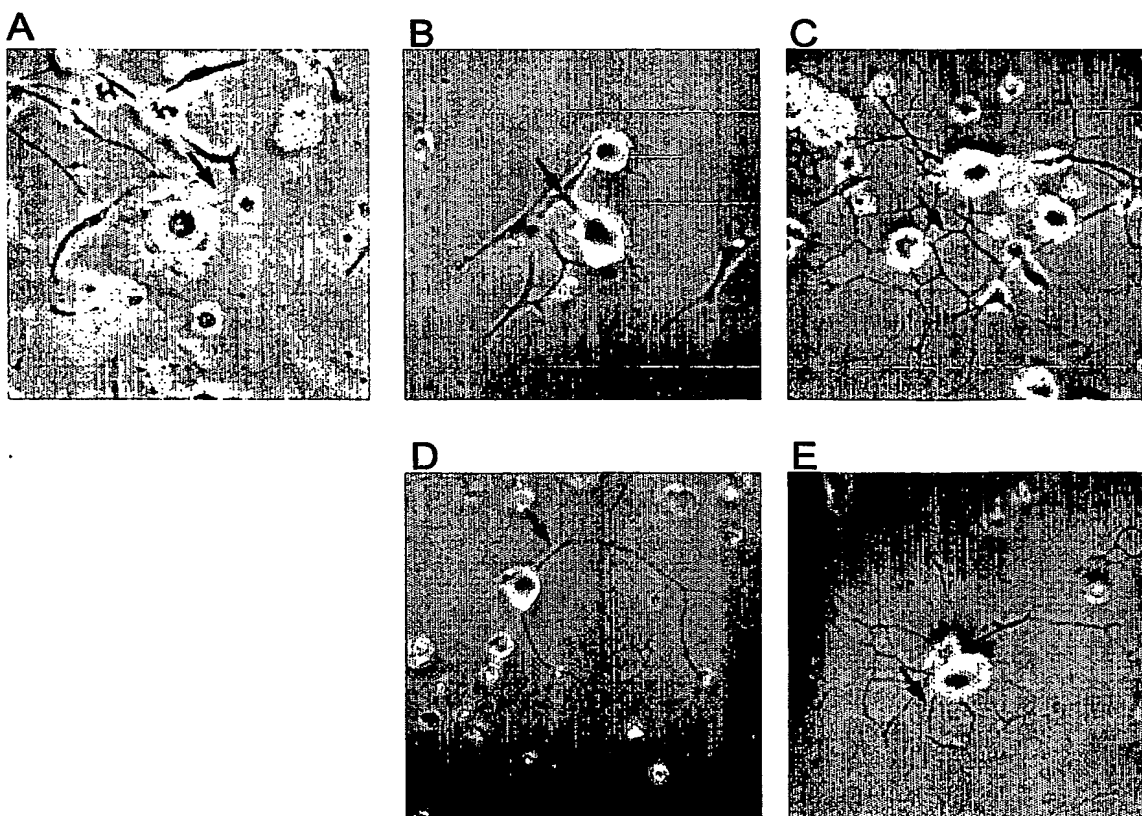


図 3

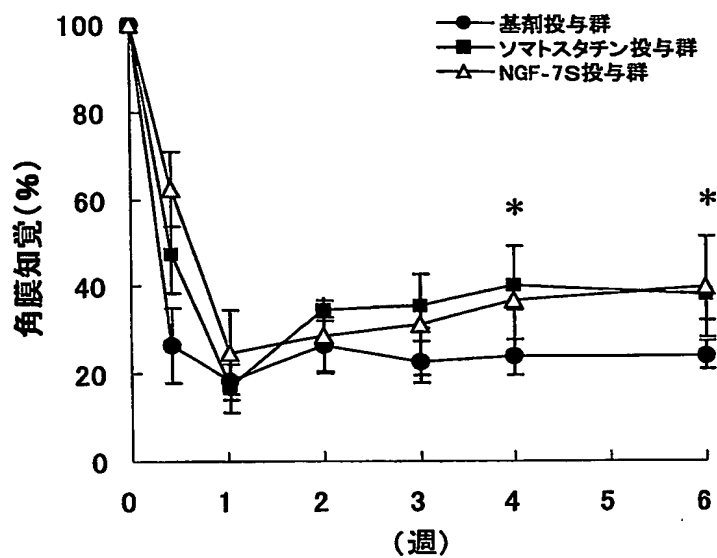


図 4

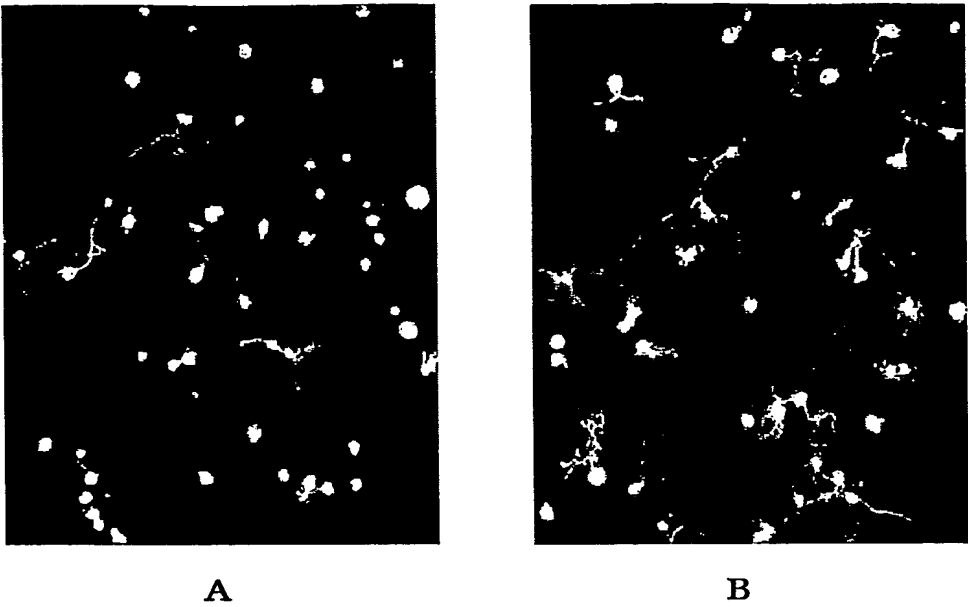


図 5

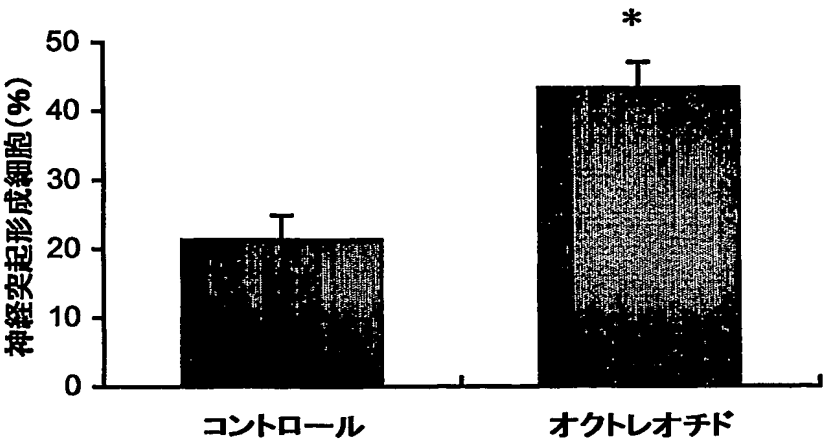


図 6

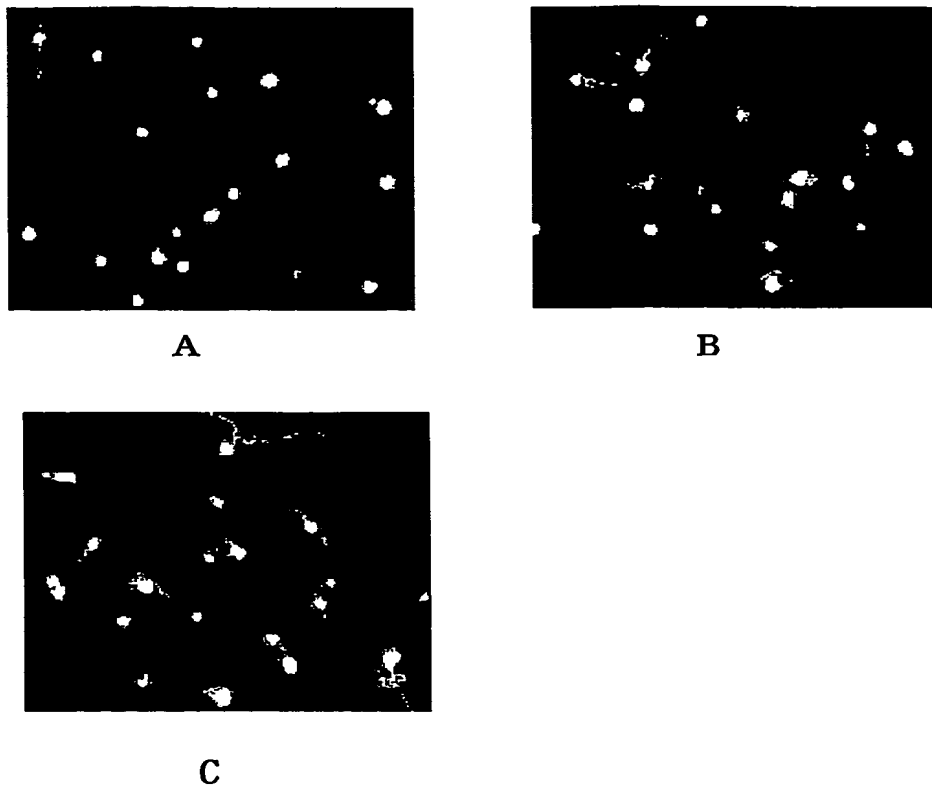
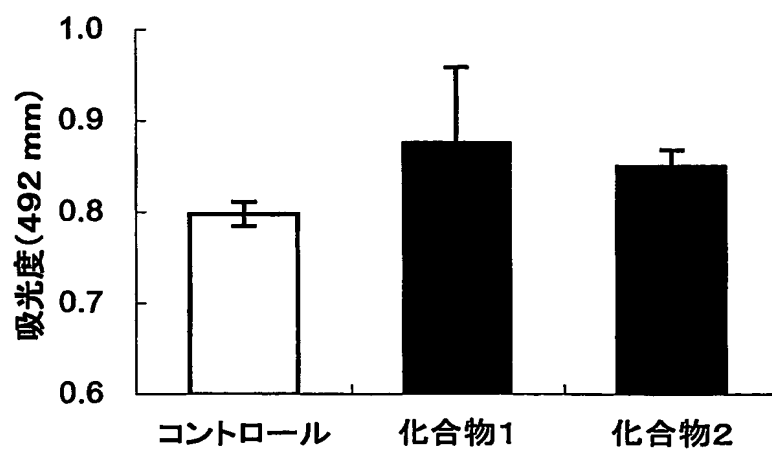


図 7



Sequence Listing

<110> Senju Pharmaceutical Co. Ltd.

<120> A medicine of the corneal disorder

<130> 226-PCT

<160> 2

<210> 1

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> TGGCCGTCTT CATTTTCTGC TCGCCGCTCA CTTTGACCAA G 41

<210> 2

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> GTGGGCAAGA TGCGCGCTGT GAATGGGGTT GGCGCAGCTG TT 42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/13503

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, A61P25/00, 27/02, 43/00//A61K38/22, 38/31

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/00-38/58, 45/00-45/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FERRIERO, Donna M. et al., Somatostatin enhances nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC12 cells, Developmental Brain Research, 15 July, 1994 (15.07.94), Vol.80, Nos.1, 2, pages 13 to 18	1-12
A	WO 98/58646 A1 (NOVO NORDISK A/S), 30 December, 1998 (30.12.98), & ZA 9805410 A & AU 9879071 A & US 6159941 A & EP 1019050 A1 & EP 1019050 B1 & DE 69804332 E & JP 2002-515912 A & ES 2174447 T3	1-12

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
27 January, 2004 (27.01.04)

Date of mailing of the international search report
24 February, 2004 (24.02.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/13503

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00/12111 A2 (THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA), 09 March, 2000 (09.03.00), & AU 9954997 A & CA 2246791 A1 & NO 200101025 A & EP 1107780 A2 & CN 1320042 A & JP 2002-523465 A & US 2002/0137676 A1	1-12
A	WO 02/064160 A2 (SOCIETE DE CONSEIL DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S.C.R.A.S.)), 22 August, 2002 (22.08.02), & NO 200303117 A & KR 2003068585 A1	1-12
A	BEREITER, David A. et al., Central trigeminal effects of somatostatin and etorphine on adrenal and autonomic function in the cat, American Journal of Physiology, March 1996, Vol.270, No.3, part 2, pages R636-R644	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/13503

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13-16

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Since the subjects to which the drug according to the invention is to be administered include humans, the inventions as set forth in claims 13 to 16 pertain to methods for treatment of the human body by therapy.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO3/13503

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K45/00, A61P25/00, 27/02, 43/00
// A61K38/22, 38/31

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/00-38/58, 45/00-45/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

Caplus (STN) BIOSIS (STN) MEDLINE (STN) EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	FERRIERO, Donna M. <i>et al.</i> , Somatostatin enhances nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC12 cells, Developmental Brain Research, July 15, 1994, Volume 80, Numbers 1, 2, pages 13-18	1-12
A	WO 98/58646 A1 (NOVO NORDISK A/S) 1998.12.30 & ZA 9805410 A & AU 9879071 A & US 6159941 A & EP 1019050 A1 & EP 1019050 B1 & DE 69804332 E & JP 2002-515912 A & ES 2174447 T3	1-12

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

27.01.2004

国際調査報告の発送日

24.2.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内田 俊生

4P

8214

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 00/12111 A2 (THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA) 2000. 03. 09 & AU 9954997 A & CA 2246791 A1 & NO 200101025 A & EP 1107780 A2 & CN 1320042 A & JP 2002-523465 A & US 2002/0137676 A1	1-12
A	WO 02/064160 A2 (SOCIETE DE CONSEIL DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S. C. R. A. S.)) 2002. 08. 22 & NO 200303117 A & KR 2003068585 A	1-12
A	BEREITER, David A. <i>et al.</i> , Central trigeminal effects of somatostatin and etorphine on adrenal and autonomic function in the cat, American Journal of Physiology, March 1996, Volume 270, Number 3 Part 2, pages R636-R644	1-12

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 13-16 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
本発明の医薬が投与される対象にヒトが含まれているから、請求の範囲13-16に記載の発明は、治療による人体の処置方法に該当する。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。